

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
29 septembre 2005 (29.09.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2005/089927 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : **B01J 13/10**

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2005/000342

(22) Date de dépôt international :  
14 février 2005 (14.02.2005)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0401579 17 février 2004 (17.02.2004) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **COM-  
MISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE** [FR/FR];  
31-33, rue de la Fédération, F-75015 Paris (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **DUBOIS,  
Monique** [FR/FR]; 2 allée de Tisfoune, F-91400 Orsay  
(FR). **ZEMB, Thomas** [FR/FR]; 58 rue du Louvre,  
F-78220 Viroflay (FR).

(74) Mandataires : **GOULARD, Sophie** etc.; **CABINET  
ORES**, 36, rue de St Pétersbourg, F-75008 Paris (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO,  
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,  
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG,  
KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,  
MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,  
PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM,  
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,  
ZW.

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de  
protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), eurasién (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO,  
SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,  
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: POLYMER-STABILISED, CRYSTALLISED, CATIONIC MEMBRANES, PREPARATION METHOD THEREOF  
AND APPLICATIONS OF SAME

(54) Titre : MEMBRANES CATIONIQUES CRISTALLISEES STABILISEES PAR DES POLYMERES, LEUR PROCEDE  
DE PREPARATION ET APPLICATIONS

(57) Abstract: The invention relates to crystallised, cationic membranes in organised solid bilayer form, comprising laterally-al-  
ternating anionic surfactants (TA) with H<sup>+</sup> counter ions and cationic surfactants (TC) with OH<sup>-</sup> counter ions which are co-crystallised  
with a mole fraction  $Q_{\text{SB}}/Q_{\text{TA}}/(Q_{\text{SB}}/Q_{\text{TA}} + Q_{\text{SB}}/Q_{\text{TC}})$  greater than 0.5. According to the invention, the  
membrane forms a surface which is flat, at least locally, and the bilayer is stabilised by at least one polymer which is neutral and  
hydrophobic or which has an opposite overall electric charge to the effective charge of the cationic membrane, said polymer being  
absorbed on the surface. The invention also relates to a method of preparing the membranes, the uses thereof, for example, as a  
medicament for the vectorisation of active species or for the retention of volatile molecules.

(57) Abrégé : L'invention concerne des membranes cationiques cristallisées sous forme de bicouche solide organisée comprenant  
une alternance latérale de tensioactifs anioniques (TA) à contre ions H<sup>+</sup> et de tensioactifs cationiques (TC) à contre ions OH<sup>-</sup> co-cris-  
tallisés de fraction molaire  $Q_{\text{TA}}/(Q_{\text{TA}} + Q_{\text{TC}})$  supérieure à 0,5, ladite membrane formant une surface au moins localement plane, la  
bicouche étant stabilisée par au moins un polymère neutre et hydrophobe ou de charge électrique globale opposée à la charge effective  
de ladite membrane cationique, ledit polymère étant adsorbé sur ladite surface. L'invention est également relative à un procédé de  
préparation de ces membranes, à leurs utilisations notamment à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives ou pour  
la rétention de molécules volatiles.



WO 2005/089927 A1

## MEMBRANES CATANIONIQUES CRISTALLISEES STABILISEES PAR DES POLYMERES, LEUR PROCEDE DE PREPARATION ET APPLICATIONS

La présente Invention est relative à des membranes catanioniques  
5 cristallisées stabilisées par des polymères, à leur procédé de préparation et à leurs  
utilisations, notamment à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives  
ou pour la rétention, par adsorption, de molécules volatiles.

Les mélanges de tensioactifs anioniques et cationiques en milieu  
aqueux donnent naissance à ce qu'il est convenu d'appeler des solutions  
10 "catanioniques".

Après appariement ionique, les contre ions forment un sel en excès  
et induisent une conductivité élevée des échantillons qui masque les interactions  
électrostatiques. Un type particulier de formulation catanionique exempt de sel est  
obtenu en utilisant uniquement des contre ions  $H^+$  et  $OH^-$ , de telle sorte qu'aucun excès  
15 de sel n'est formé par le mélange des deux tensioactifs (Dubois M. *et al.*, C. R. Acad.  
Sci. Paris II C, 1998, 1(9) 567-565). Les systèmes catanioniques résultants sont  
couramment appelés "systèmes catanioniques vrais".

Lorsque ces solutions catanioniques sont chauffées à une  
température supérieure à la température de fusion des chaînes, les tensioactifs  
20 anioniques et cationiques s'auto-assemblent sous la forme de micelles stables de  
formes variées (sphères, cylindres ou encore bicouches pliées). En fonction des  
proportions relatives entre constituants cationiques et anioniques, différentes formes  
de structures peuvent être ensuite obtenues lors du refroidissement de ces solutions.

Lorsque la solution catanionique renferme un excès de tensioactifs  
25 cationiques, on observe la formation de nanodisques cristallisés formés d'une structure  
en sandwich à membrane externe rigide, dont le diamètre, ajustable, peut varier de  
quelques microns à une trentaine de nanomètres et dans lesquels les charges positives  
sont majoritairement localisées au niveau de la tranche. La structure et le procédé de  
préparation de ces nanodisques catanioniques sont notamment décrits dans l'article de  
30 Zemb T. *et al.*, Science, 1999, 283, 816-819.

A l'inverse, lorsque la solution catanionique renferme un excès de tensioactifs anioniques, on observe la formation de polyèdres creux dont la forme variera en fonction de la quantité de tensioactifs anioniques en excès. Dans certaines conditions, on observe en particulier la formation d'icosaèdres creux dont la forme rappelle celle observée pour les protéines de capsides virales. Leur structure et leur procédé de préparation sont notamment décrits dans l'article de Dubois M. *et al.*, Nature, 2001, **411**, 672-675. Cet article décrit notamment des icosaèdres de taille micrométrique et d'un poids d'environ  $10^{10}$  daltons dont la structure est en partie stabilisée par la présence de pores aux sommets des polyèdres. Selon cet article, la formation d'icosaèdre nécessite la réunion des trois conditions suivantes :

1) la formation de vésicules unilamellaires stables lors du mélange équimolaire à haute température des solutions de tensioactifs anioniques et cationiques,

2) l'excès de tensioactif anionique doit être insoluble dans l'eau et dans la bicouche cristallisée obtenue lors du mélange équimolaire des tensioactifs anioniques et cationiques,

3) la quantité de tensioactif en excès doit être telle qu'elle permette la formation de 10 à 15 pores par vésicule.

L'absence de la condition 3) conduit à la formation de nanodisques ou de grandes bicouches cristallines ouvertes incluant des pores.

Toujours selon l'enseignement de cet article et grâce à la présence de ces pores, différentes utilisations de tels polyèdres pourraient être envisagées. Ils pourraient par exemple être utilisés à titre de médicaments pour la libération contrôlée de principes actifs ou d'ADN en thérapie génique ou l'isolement de brins d'ARN afin de les protéger de l'action d'enzymes destructrices. Cependant, ces polyèdres présentent l'inconvénient majeur d'être particulièrement sensibles à la moindre présence de sels, et ont tendance à s'agglomérer entre eux, interdisant par exemple leur utilisation dans les milieux physiologiques tels que par exemple le milieu sanguin et par conséquent leur injection par voie intraveineuse.

Par ailleurs, diverses structures permettant de délivrer des principes actifs, incluant des formes à libération prolongée, ont déjà été proposées et sont basées

sur l'encapsulation d'ingrédients actifs à l'intérieur de vésicules. C'est ainsi que dans ce but, un grand nombre de documents de l'art antérieur a décrit l'utilisation de vésicules sphériques constituées d'une ou plusieurs bicouches lipidiques et communément désignés sous le nom de liposomes. Cependant l'utilisation de liposomes ne donne pas  
5 toujours entière satisfaction en terme de stabilité notamment et également dans la mesure où leur préparation met en œuvre des procédés nécessitant l'emploi de solvants organiques dont l'utilisation n'est pas forcément compatible avec les milieux physiologiques et un matériel particulier.

C'est donc afin de remédier à l'ensemble de ces inconvénients et de  
10 pourvoir à un nouveau système de délivrance de molécules actives qui soit stable, résistant à des forces ioniques élevées et simple à mettre en œuvre que les Inventeurs ont mis au point ce qui fait l'objet de la présente Invention.

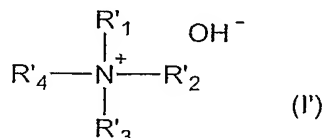
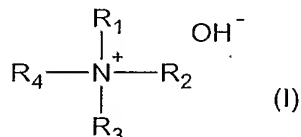
L'Invention a donc pour premier objet une membrane catanionique sous forme d'une bicouche solide organisée comprenant une alternance latérale de  
15 tensioactifs anioniques à contre ions  $H^+$  et de tensioactifs cationiques à contre ions  $OH^-$  co-cristallisés dans laquelle la fraction molaire (FM) : quantité molaire de tensioactifs anioniques ( $Q_{TA}$ ) / (quantité molaire de tensioactifs anioniques ( $Q_{TA}$ ) + quantité molaire de tensioactifs cationiques ( $Q_{TC}$ )) est supérieure à 0,5 (soit  $Q_{TA} / (Q_{TA} + Q_{TC}) > 0,5$ ), ladite membrane formant une surface au moins localement plane,  
20 caractérisée par le fait que ladite bicouche est stabilisée par au moins un polymère neutre et hydrophobe ou de charge électrique globale opposée à la charge effective de ladite membrane catanionique, ledit polymère étant adsorbé sur ladite surface.

La présence des polymères adsorbés à leur surface permet de stabiliser les membranes catanioniques conformes à l'Invention au cours du  
25 mouvement brownien, et permet en particulier de conserver une distance d'au moins un nanomètre entre deux membranes évitant leur précipitation et permettant ainsi leur dilution par des solutions isotoniques telles que l'eau de mer ou le milieu sanguin.

Les tensioactifs cationiques et anioniques pouvant être utilisés conformément à l'Invention sont de préférence choisis parmi les composés présentant  
30 une température de fusion supérieure à la température d'utilisation de façon à se présenter sous forme cristallisée. La température d'utilisation pouvant varier entre 20

et 30°C, on choisira plus particulièrement des tensioactifs ayant une température de fusion supérieure à 30°C.

Les tensioactifs cationiques pouvant être utilisés conformément à l'invention pour la formation des bicouches, sont de préférence choisis parmi les ammoniums quaternaires mono- et bicationnaires respectivement de formules (I) et (I') suivantes :



dans lesquelles :

- R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> et R<sub>3</sub>, identiques ou différents, représentent un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, hydroxyalkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou alkyl(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)éther,
  - R'<sub>1</sub> et R'<sub>2</sub>, identiques ou différents, représentent un radical alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, hydroxyalkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou alkyl(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)éther,
  - R'<sub>3</sub> et R'<sub>4</sub>, identiques ou différents, représentent une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub>, un radical benzyle, alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)benzyle ou un groupement alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)ester,
  - R<sub>4</sub> représente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub>, un radical benzyle, alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)benzyle, ou un groupement alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)ester ;
- et leurs mélanges.

Parmi les radicaux alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> des tensioactifs cationiques de formules (I) et (I') ci-dessus, le radical méthyle est particulièrement préféré.

Parmi les chaînes hydrocarbonées en C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> des radicaux R'<sub>3</sub>, R'<sub>4</sub> et R<sub>4</sub>, on peut notamment citer les chaînes alkyle telles que par exemple les chaînes stéaryle, cétyle, dodécyle et tétradécyle.

Parmi les groupements alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)ester mentionnés pour les radicaux R'<sub>3</sub>, R'<sub>4</sub> et R<sub>4</sub>, on peut en particulier citer les alkyl(C<sub>16</sub>)esters et les alkyl(C<sub>12</sub>)esters.

Parmi les composés de formule (I) ci-dessus à contre ion OH<sup>-</sup>, on peut en particulier citer l'hydroxyde de cétyltriméthylammonium, l'hydroxyde de

dodécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriméthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de N-(2-carboxyxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de N-(2-hydroxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de cétyltriéthylammonium, l'hydroxyde de  
5 dodécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriéthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de cétyltripropylammonium, l'hydroxyde de dodécyltripropylammonium, l'hydroxyde de stéaryltripropylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltripropylammonium.

Parmi les composés de formule (I') ci-dessus, on peut en particulier  
10 citer l'hydroxyde de didodécyl-diméthylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-diéthylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-dipropylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-dibutylammonium et l'hydroxyde de dicétyl-diméthyltriméthylammonium.

Les tensioactifs anioniques pouvant être utilisés conformément à l'Invention pour la formation des bicouches, sont de préférence choisis parmi les  
15 acides carboxyliques à chaîne hydrophobe carbonée en C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> à contre ions H<sup>+</sup> et les phosphates et sulfonates à contre ions H<sup>+</sup> comportant une ou deux chaînes alkyle en C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>.

Parmi ces tensioactifs anioniques, on peut en particulier citer les acides gras tels que l'acide myristique, l'acide laurique et l'acide palmitique, les  
20 phosphates, les sulfonates, les benzylsulfates et les monoesters de glycérol monocaténares présentant, de préférence, un pic fin de diffraction de rayons X aux grands angles après association avec le tensioactif cationique situé à  $q = 1,52 \pm 0,15 \text{ \AA}^{-1}$  sans épaulement comme décrit par exemple par Rank J.L. *et al.*, J. Mol. Biol., 1974, **85**(2), 249-277.

25 Il est possible, conformément à l'Invention, d'associer n'importe quel type de tensioactif anionique à contre H<sup>+</sup> avec n'importe quel type de tensioactif cationique à contre ion OH<sup>-</sup> et en particulier à n'importe quel tensioactif cationique de formule (I) et/ou de formule (I') puisqu'il est possible de prévoir un mélange de tensioactifs cationique mono et bicaténares.

30 Comme cela a été indiqué précédemment, une des caractéristiques essentielles de l'Invention est que la FM des tensioactifs utilisés pour la formation des

bicouches ( $Q_{TA}/(Q_{TA}+Q_{TC})$ ) doit être supérieure à 0,5. Selon une forme de réalisation préférée de l'Invention, cette FM est comprise entre 0,52 et 0,66 et encore plus préférentiellement entre 0,55 et 0,58.

Selon une forme de réalisation particulière et préférée de l'Invention,

5 les bicouches sont constituées :

a) soit d'un tensioactif cationique de formule (I) telle que définies ci-dessus et dans laquelle les radicaux  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  sont identiques et représentent un radical méthyle et  $R_4$  représente une chaîne hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que  
10 défini ci-dessus dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en  $C_8-C_{24}$  contient  $X \pm 4$  atomes de carbone ;

b) soit d'un tensioactif cationique de formule (I') telle que définie ci-dessus dans laquelle les radicaux  $R'_1$  et  $R'_2$  sont identiques et représentent un radical méthyle et  $R'_3$  et  $R'_4$  sont identiques et représentent une chaîne hydrocarbonée ayant X  
15 atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini ci-dessus dans lequel la chaîne hydrophobe carbonée en  $C_8-C_{24}$  contient  $X \pm 4$  atomes de carbone ;

c) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant deux chaînes alkyle identiques ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24  
20 inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I) tel que défini ci-dessus et dans laquelle les radicaux  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  sont identiques et représentent un radical méthyle et  $R_4$  représente une chaîne alkyle en  $C_8-C_{24}$  ;

d) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant une seule chaîne alkyle ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé  
25 à tensioactif cationique de formule (I') tel que défini ci-dessus et dans laquelle les radicaux  $R'_1$  et  $R'_2$  sont identiques et représentent un radical méthyle et  $R'_3$  et  $R'_4$  sont identiques et représentent une chaîne alkyle en  $C_8-C_{24}$ .

Selon une forme encore plus particulièrement préférée de l'Invention, les bicouches sont formées d'une association de cétyltriméthylammonium  
30 à contre ion  $OH^-$  et d'acide myristique à contre ion  $H^+$ .

En plus, des tensioactifs anioniques à contre ions  $H^+$ , les bicouches conformes à l'Invention peuvent en outre renfermer une quantité molaire minoritaire de tensioactifs anioniques à contre ion métallique, et en particulier à contre ion sodium, magnésium, lithium, chrome, vanadium ou nickel par exemple, lesdits  
5 tensioactifs étant choisis parmi les tensioactifs anioniques cités précédemment, à l'exception bien entendu de la nature du contre ion. Selon l'Invention, on entend par quantité molaire "minoritaire", une quantité de tensioactif anionique à contre ion métallique nécessaire pour amener la FM finale dans l'intervalle compris entre 0,52 et 0,66 tel que défini précédemment.

10 Selon une forme de réalisation particulière de l'Invention, les paires d'ions formant les têtes polaires des tensioactifs cationiques et anioniques occupent perpendiculairement une surface de préférence égale à celle des chaînes cristallisées, sur un réseau hexagonal, détectables par un premier pic fin situé autour de  $q = 1,52 \pm 0,15 \text{ \AA}^{-1}$ .

15 Selon une forme de réalisation avantageuse de l'Invention, les polymères pouvant être utilisés pour stabiliser les bicouches conformes à l'Invention sont des polymères non lipidiques, choisis parmi des polymères neutres ou de charge électrique globale opposée à la charge effective des membranes catanioniques, c'est-à-dire de charge électrique globale "faiblement" négative.

20 Au sens de la présente invention, on entend par "charge effective", la charge électrique globale tenant compte du pKa apparent de l'acide dans le cristal, qui se manifeste par exemple en mobilité électrophorétique par un mouvement des bicouches vers l'anode. Cette charge électrique est différente de la charge structurale dosable et déduite de la localisation de la composition dans un diagramme de phase.

25 Egalement au sens de la présente Invention, on entend par polymères de charge électrique globale "faiblement" négative, les polymères comportant moins de une charge électrique élémentaire pour 2 nanomètres de longueur étirée.

Lorsqu'il s'agit de polymères neutres, ceux-ci sont de préférence choisis parmi les polysaccharides tels que par exemple les dextranes et les dérivés de  
30 cellulose tels que les hydroxyméthylcelluloses, les hydroxyéthylcelluloses et les hydroxypropylcelluloses, les polymères de synthèse tels que les polyéthylèneglycols

(PEG), les polyoxyéthylènes, la polyvinylpyrrolidone (PVP) et les polyvinylalcools tels que les produits vendus sous les dénominations commerciales PVA, Ethenol®, Poval®, Acroflex®, Airvol®, Alcotex® ou Aquafilm®, les polymères di-blocs oxyéthylénés tels que les polymères vendus sous la dénomination commerciale  
5 Varonic® par la société Degussa-Goldschmidt, les copolymères blocs à base d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène tels que les polymères vendus sous les dénominations commerciales Pluronic® et Lutrol® par la société BASF et leurs équivalents hydrosolubles, les copolymères tri-blocs hydrosolubles, c'est-à-dire les copolymères composés de blocs hydrophile-hydrophobe-hydrophile tels que les  
10 produits vendus sous les dénominations commerciales Méthyl-oxyrane, copolymère EOPO, Antarox®, Arcol®, Daltocel®, Dowfax® et leurs analogues comportant du polystyrène comme groupement hydrophobe.

Lorsqu'il s'agit de polymères de charge électrique globale faiblement négative, ceux-ci sont de préférence choisis parmi les polyacrylates, les  
15 polyméthacrylates, les polyéthylméthacrylates, les polybutylméthacrylates et les polystyrènesulfonates, lesdits polymères étant substitués à plus de 75 % aléatoirement par des groupements hydrosolubles neutres tels que par exemple des groupements polyoxyéthylène ou similaire.

Parmi les polymères utilisables conformément à l'invention, on  
20 préfère tout particulièrement utiliser des polymères faiblement adsorbés tels que le polyoxyéthylène, le dextrane, la PVP, les polymères vendus sous les dénominations commerciales Varonic®, Pluronic® et Lutrol®, Méthyl-Oxyrane, Pluronic®, Antarox®, Arcol®, Daltocel® et Dowfax®.

Parmi ces polymères, on préfère encore plus particulièrement utiliser  
25 un polyéthylèneglycol de masse moléculaire comprise entre 5 000 et 50 000 Da, et encore plus préférentiellement entre 10 000 et 20 000 Da.

Ces polymères représentent de préférence de 10 à 400 % et encore plus particulièrement de 100 à 200 % en poids par rapport au poids total de la bicouche.

Selon une forme de réalisation particulière de l'Invention, les membranes catanioniques peuvent notamment se présenter sous la forme de micro-cristaux creux facettés lorsque la FM  $Q_{TA}/(Q_{TA}+Q_{TC})$  est comprise entre 0,55 et 0,58.

5 Dans ce cas, ces micro-cristaux peuvent prendre la forme de polyèdres creux (boîtes moléculaires) comportant de 12 à 30 faces approximativement triangulaires, et tout particulièrement sous la forme d'icosaèdres creux ayant un volume intérieur compris entre 0,1 et  $10 \mu^3$ .

Au sein de la bicouche solide organisée de chacune des faces de ces micro-cristaux, l'alternance latérale des tensioactifs anioniques et cationiques co-  
10 cristallisés est hexagonale, la partie plane desdites faces étant uniquement constituée d'espèces à contre ions  $H^+$  ou  $OH^-$  en quantités stoechiométriques tandis que les sommets desdites faces se présentent sous la forme d'un demi-tore interne formé en majorité des espèces anioniques en excès et en une quantité suffisante pour obtenir une FM  $Q_{TA}/(Q_{TA}+Q_{TC})$  comprise entre 0,55 et 0,58.

15 Selon cette configuration, c'est-à-dire lorsque les sommets de chaque face se présentent sous la forme d'un demi-tore interne, alors le sommet de chacune des faces d'un micro-cristal forme un pore, conjointement avec les sommets des faces adjacentes du même micro-cristal. Dans ce cas, chaque micro-cristal peut comporter de 10 à 15 pores environ.

20 Grâce à la présence des polymères neutres ou de charge électrique faiblement négative adsorbés à leur surface et qui bloquent la floculation et la coalescence, ces boîtes moléculaires peuvent résister à la force ionique, c'est-à-dire à la présence de sels, et ce jusqu'à l'isotonicité. La présentation des membranes catanioniques sous forme de boîte moléculaire est particulièrement préférée selon  
25 l'Invention.

Les membranes catanioniques conformes à l'Invention peuvent également se présenter sous la forme de fragments de polyèdres creux, c'est à dire sous la forme d'un empilement de cristaux catanioniques tridimensionnels en forme de "piles d'assiettes", résultant de l'ouverture des boîtes moléculaires et de l'empilement  
30 dense des fragments des facettes.

Après leur formation et avant l'adsorption du polymère stabilisant spécifique, le pH de la solution de membranes peut être ajusté à toute valeur de pH comprise entre 2 et 6. Ceci permet la réalisation de réactions en milieu acide et permet également d'éviter la précipitation de cristaux macroscopiques. Pour ce faire, on utilisera de préférence des acides à contre ions hydrophiles tels que par exemple l'acide chlorhydrique, l'acide acétique et l'acide citrique.

Ces membranes catanioniques sont stables en milieux physiologiques et permettent notamment de retenir par adsorption et/ou encapsulation et de contrôler la diffusion lente, de molécules actives pharmaceutiques, cosmétiques ou bien encore de cellules telles que des bactéries par exemple. Elles sont capables en particulier de résister à de fortes compressions osmotiques et même à la transformation de l'eau en glace tout en restant sous forme d'agrégats bien individualisés à parois rigides et localement planes.

La présente Invention a également pour objet un procédé de préparation d'une membrane catanionique conforme à l'Invention et telle que décrite ci-dessus, ledit procédé étant caractérisé par le fait qu'il comprend les étapes suivantes :

1) une première étape de formation de vésicules unilamellaires par mélange, dans un solvant aqueux de faible conductivité :

a) d'un tensioactif cationique (TC) à contre ions  $\text{OH}^-$  en une quantité molaire  $Q_{\text{TC}}$  et

b) d'un ou plusieurs tensioactifs anioniques (TA) en une quantité molaire  $Q_{\text{TA}}$  strictement supérieure à  $Q_{\text{TC}}$ , et répondant aux équations (1) à (3) suivantes :

$$Q_{\text{TA}} = Q_{\text{TA1}} + Q_{\text{TA2}} \quad (1)$$

$$Q_{\text{TA1}} = Q_{\text{TC}} \quad (2) \text{ et}$$

$$Q_{\text{TA2}} < 2(Q_{\text{TC}}) \quad (3)$$

dans lesquelles :

-  $Q_{\text{TA1}}$  est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre ion  $\text{H}^+$

-  $Q_{TA2}$  est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre ion  $H^+$  ou à contre ion métallique, lesdits tensioactifs ayant une chaîne carbonée identique à celle du TC ou du TA à contre ion  $H^+$  utilisé en quantité  $Q_{TA1}$ ,

5                   ledit mélange de tensioactif cationique et de tensioactif anionique étant réalisé à une température supérieure à la température de fusion des chaînes desdits tensioactifs ;

2) une deuxième étape d'obtention d'agrégats plans formés d'une seule bicouche moléculaire cristallisée, inter-digitée ou non, par refroidissement du  
10                   mélange obtenu à la première étape à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents dans le mélange ;

3) une troisième étape de stabilisation des bicouches moléculaires cristallisées obtenues ci-dessus à la deuxième étape, par ajout d'au moins un polymère neutre et hydrophobe ou d'un polymère de charge électrique globale faiblement  
15                   négative en solution dans un solvant aqueux de faible conductivité, ladite étape étant réalisée à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents au sein du mélange.

Lors de la première étape, la dissolution des tensioactifs dans le solvant aqueux est de préférence réalisée de façon lente et peut notamment se  
20                   poursuivre pendant des durées variables allant d'une heure à une semaine, sous agitation mécanique minimale, sans chauffage.

Selon une première forme de réalisation particulière de ce procédé, et lorsque les tensioactifs anioniques utilisés lors de la première étape sont uniquement constitués de TA à contre ions  $H^+$ , on parle alors de mélange catanionique vrai  
25                   comportant donc uniquement des contre ions  $OH^-$  (apporté par les TC) et des contre ions  $H^+$ . Dans ce cas, le mélange des TA et des TC peut éventuellement être réalisé de façon préalable sous forme de poudre avant dissolution dans le solvant.

Selon une deuxième forme de réalisation de ce procédé, et lorsque l'excès de TA est constitué par des TA à contre ions métalliques, alors la première  
30                   étape du procédé conforme à l'Invention comprend :

- une première sous étape au cours de laquelle on réalise d'abord le mélange du TC à contre ion  $\text{OH}^-$  avec le TA à contre ions  $\text{H}^+$  en une quantité  $Q_{\text{TA1}}$  égale à  $Q_{\text{TC}}$ , puis

5       - une deuxième sous étape au cours de laquelle on ajoute ensuite la quantité molaire  $Q_{\text{TA2}}$  de TA à contre ion métallique.

Dans ce cas la nature des contre ions métalliques pourra être choisie en fonction de la propriété que l'on souhaite conférer à la membrane cationique conforme à la présente Invention. A titre d'exemple, on peut notamment citer les contre ions sodium à propriétés anti-corrosives, ainsi que les ions chrome, vanadium et  
10       nickel qui ont des propriétés inhibitrices de la corrosion électrochimique des alliages de fer.

Une fois que les solutions de tensioactifs sont optiquement homogènes, l'étape de chauffage permet de fondre entièrement les chaînes des tensioactifs associées aux paires d'ions formées au cours de la dissolution lente. Lors  
15       de cette étape, les composés destinés à former les bicouches conformes à l'Invention sont dispersés sous forme de vésicules en forte répulsion électrostatique. Chaque vésicule constitue un micro-réacteur formé par une bicouche fluide (chaînes liquides) qui après l'étape de refroidissement se transformera en une bicouche rigide (chaînes gelées).

20       Les solvants aqueux utilisés au cours de ce procédé présentent de préférence une conductivité inférieure ou égale à 1 MOhm environ. Ils sont de préférence choisis parmi l'eau, le glycérol et leurs mélanges.

Lors de la première étape, la concentration totale de tensioactifs (TA plus TC) au sein de la solution est de préférence comprise entre 0,01 et 3 % en poids  
25       par rapport au poids total de ladite solution.

Egalement lors de la première étape, la température à laquelle est chauffée le mélange dépend bien évidemment de la nature des tensioactifs cationiques et anioniques utilisés, cependant de manière générale, cette température est généralement supérieure à 30°C et inférieure à 80°C et encore plus préférentiellement  
30       entre 30°C et 70°C. Cette température peut être ajustée pour chaque solution de

tensioactifs, à 5°C au dessus de la température du mélange de tensioactifs considérés, détectable par un pic endothermique par calorimétrie à balayage différentiel (DSC).

Cette température est encore plus préférentiellement comprise entre 55 et 70°C. Ainsi, lors de la deuxième étape, le mélange est refroidi à une température  
5 de préférence inférieure à 30°C et encore plus préférentiellement à une température comprise entre 20 et 25°C.

Selon une forme de réalisation particulière du procédé conforme à l'Invention, on peut en outre ajouter au mélange lors de la première étape, au moins une substance active qui se trouvera adsorbée à la surface des membranes  
10 catanioniques et/ou encapsulée à l'intérieur des vésicules (boîtes moléculaires). Parmi ces substances actives, on peut notamment citer les principes actifs pharmaceutiques, les substances actives à visée cosmétique et en particulier les molécules odorantes volatiles, les cellules telles que les bactéries entières, les fragments d'ADN ou d'ARN.

A cette occasion, l'homme de l'art veillera de préférence à choisir des  
15 substances actives dont la charge électrique sera suffisamment faible de façon à éviter toute déstabilisation des membranes catanioniques conformes à l'Invention.

Selon un mode de réalisation particulier du procédé conforme à l'Invention, il est également possible, au cours de la deuxième étape, d'ajuster le pH du mélange entre 2 et 6 comme indiqué précédemment.

20 Selon une forme de réalisation avantageuse de l'Invention et lorsque les membranes catanioniques se présentent sous la forme de polyèdres creux (boîtes moléculaires), alors le procédé comporte généralement une étape supplémentaire d'élimination des substances actives qui n'auraient pas été encapsulées à l'intérieur des polyèdres ou qui se trouveraient adsorbées à leur surface. Cette étape d'élimination  
25 peut être réalisée par rinçage, notamment à l'aide d'un solvant aqueux identique à celui qui est utilisé pour la préparation des membranes, par dialyse ou bien encore par filtration.

Selon l'Invention, la fraction de volume de polymère ajouté au mélange lors de la troisième étape est de préférence comprise entre une et deux fois la  
30 masse totale des tensioactifs cationiques et anioniques afin de présenter une couche de protection stérique ou électrostatique permettant l'ajout de sel sans destruction des

polyèdres facettés de type icosaèdres, ni la précipitation des espèces catanioniques formant un cristal tridimensionnel.

Enfin, l'Invention a également pour objet les membranes catanioniques conformes à l'Invention et telles que décrite ci-dessus, pour une utilisation à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives ou pour la

5 rétention par adsorption et diffusion lente de molécules volatiles.

Selon une forme de réalisation avantageuse de l'Invention, la membrane catanionique se présente sous la forme d'un polyèdre creux facetté et est utilisée pour :

- 10 - l'encapsulation de médicaments, en vue de leur vectorisation,  
- l'encapsulation de bactéries entières, de fragments d'ADN ou d'ARN, de façon à les rendre inaccessibles au système immunitaire,  
- la rétention de réactifs pour des réactions chimiques se produisant à l'intérieur des polyèdres,
- 15 - la réalisation de réactions de précipitation ou de cristallisation à l'intérieur des polyèdres, par diffusion lente de réactifs vers l'intérieur au travers des pores des polyèdres,  
- à titre d'ingrédient cosmétique pour la fabrication de crèmes, obtenues par floculation sous la forme de grappes de polyèdres, et permettant la
- 20 diffusion efficace de molécules actives après adsorption du polyèdre sur des surfaces de potentiel électrique de surface opposé telles que la peau par exemple.

Outre les dispositions qui précèdent, l'Invention comprend encore d'autres dispositions qui ressortiront de la description qui va suivre, qui se réfère à un exemple de préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de

25 cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $H^+$  et à un exemple de préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $H^+$  et  $Li^+$ , ainsi qu'aux figures 1 à 4 annexées dans lesquelles :

- la figure 1 représente une photographie en microscopie à
- 30 cryofracture de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $H^+$  avant stabilisation par

un polymère neutre (PEG 20 000) et à une concentration totale dans l'eau en tensioactifs de 1 % en poids et avec une fraction molaire TA/(TA+TC) égale à 0,56 ;

- la figure 2 représente une photographie en microscopie à cryofracture de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $H^+$  après stabilisation par un polymère neutre de polyéthylèneglycol (PEG 20 000) et à une concentration totale dans l'eau en tensioactifs de 1 % en poids et avec une fraction molaire TA/(TA+TC) égale à 0,56 ;

- la figure 3 annexée qui représente les spectres de diffraction de rayons X à 25°C (structure cristallisée) et à 65°C (structure non cristallisée) de mélanges catanioniques de CTAOH et d'acide myristique à contre ions  $H^+$ , sur laquelle l'intensité de diffusion (en  $cm^{-1}$ ) est exprimée en fonction du vecteur d'onde Q (en  $\text{\AA}^{-1}$ ) ;

- la figure 4 représente une photographie en microscopie à cryofracture de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $H^+$  en quantités équimolaires, et d'un excès d'acide myristique à contre ion  $Li^+$ .

Il doit être bien entendu toutefois que ces exemples sont donnés uniquement à titre d'illustration de l'objet de l'invention dont ils ne constituent en aucune manière une limitation.

**EXEMPLE 1 : Préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $H^+$**

Cet exemple illustre une des deux variantes du procédé de préparation des bicouches conformes à l'Invention, à savoir celle où l'on mélange directement le TC à contre ion  $OH^-$  et le TA à contre ion  $H^+$  en excès pour obtenir un mélange catanionique vrai et ce sans passer par une sous étape préalable de prémélange équimolaire de TA et TC.

Pour ce faire, on mélange, à l'état de poudres lyophilisées, 0,023 g d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium (CTAOH) et 0,022 g d'acide myristique à contre ion  $H^+$ . On obtient ainsi un mélange dont la fraction molaire acide myristique à contre ion  $H^+$ /(acide myristique à contre ion  $H^+$  + CTAOH) est égale à 0,56. On ajoute

ensuite au mélange de poudres ainsi obtenu, 4,46 g d'eau Millipore ( $< 1 \text{ Mohm/cm}$ ) pour former une solution présentant une concentration pondérale totale en tensioactifs égale à 1 % et une fraction molaire  $\text{TA}/(\text{TA}+\text{TC})$  égale à 0,56. En agitation douce pendant une semaine, on laisse se dissoudre les composés à température ambiante.

5 Après avoir constaté la dissolution complète des tensioactifs (disparition des grains solides d'acide myristique), on chauffe la solution à une température homogène et légèrement supérieure à  $65^\circ\text{C}$  qui correspond à la température de fusion des chaînes des tensioactifs pendant une minute. On laisse ensuite refroidir la solution jusqu'à température ambiante.

10 Indépendamment, on prépare une solution à 1,5 % en poids de polyéthylèneglycol vendu sous la dénomination PEG 20 000 (polymère neutre). On mélange à température ambiante, volume à volume, la solution de tensioactifs à la solution de polymère sous agitation douce. La dispersion finale obtenue peut être concentrée par simple filtration en raison de la conjonction de la cristallisation des  
15 chaînes, de la taille des objets, de la faible viscosité de la solution et de la faible pression osmotique ( $< 1000 \text{ Pa}$ ) de la dispersion finale obtenue.

La solution obtenue avant concentration est légèrement diffusante et bleuâtre et contient une dispersion d'objets facettés microniques creux détectables par leur diffusion caractéristique décroissant comme le carré de l'angle de diffusion aux  
20 petits angles (lumière ou neutrons), associé à la présence d'un pic de Bragg fin ( $< 0,002 \text{ nm}$ ) situé entre  $0,150 \text{ nm}^{-1}$  et  $0,156 \text{ nm}^{-1}$  par diffusion des rayons X aux grands angles.

Par ailleurs, les propriétés de stabilité de la membrane selon l'Invention en présence de solutions salines jusqu'à l'osmolarité isotonique ont été  
25 démontrées par mélange avec une solution de chlorure de sodium concentrée jusqu'à obtenir une concentration saline finale de 0,15 M.

Les boîtes icosaédriques ainsi obtenues ont été observées directement par microscopie à cryofracture. Les images obtenues sont reportées sur les figures 1 et 2 annexées prises avant et après stabilisation par le polymère neutre. La  
30 nature cristallisée des faces a par ailleurs été vérifiée par diffraction de rayons X sur des échantillons de nature chimique identique mais plus concentrés (bande à

$q = 1,52 \pm 0,01 \text{ \AA}^{-1}$  comme cela apparaît sur la figure 3 annexée qui représente l'intensité de diffusion (en  $\text{cm}^{-1}$ ) en fonction du vecteur d'onde  $Q$  (en  $\text{\AA}^{-1}$ ) à une température de  $65^\circ\text{C}$  (structure non cristallisée) et à une température de  $25^\circ\text{C}$  (structure cristallisée).

5 **EXEMPLE 2 : Préparation de polyèdres creux cristallisés à base d'hydroxyde de cétyltriméthylammonium et d'acide myristique à contre ion  $\text{H}^+$  et d'un excès d'acide myristique à contre ion  $\text{Li}^+$**

Cet exemple illustre la deuxième variante du procédé conforme à l'Invention, c'est-à-dire la préparation de polyèdres creux dans lesquels l'excès de  
10 tensioactif anionique est composé d'un tensioactif anionique à contre ion lithium, ce qui impose de réaliser la première étape du procédé en deux sous étapes tel que décrit explicitement précédemment.

Tout comme à l'exemple 1, on mélange tout d'abord 0,0230 g de CTAOH lyophilisé et 0,0174 g d'acide myristique à contre ions  $\text{H}^+$  puis on ajoute une  
15 quantité d'eau Millipore ( $>1\text{Mohm/cm}$ ) suffisante pour former une solution à 1 % en poids de tensioactifs totaux. Au sein de cette solution la quantité molaire  $Q_C$  de CTAOH est identique à la quantité molaire  $Q_{A1}$  d'acide myristique à contre ion  $\text{H}^+$ . On laisse ensuite se dissoudre le mélange de tensioactifs par agitation lente à température ambiante jusqu'à obtenir une solution qui ne contienne plus d'hétérogénéités visibles à  
20 l'oeil et correspondant à des cristaux l'acide myristique. On chauffe ensuite la solution à une température supérieure à  $50^\circ\text{C}$  pendant 1 minute ; la solution doit être transparente et ne contenir aucun agrégat. On laisse refroidir à température ambiante. On ajoute ensuite à cette solution 0,0051 g de myristate de lithium en poudre. On obtient alors une solution de tensioactifs catanioniques au sein de laquelle la fraction  
25 molaire myristate ( $\text{H}^+ + \text{Li}^+$ )/( $\text{myristate} (\text{H}^+ + \text{Li}^+) + \text{CTAOH}$ ) est égale à 0,56. On agite le mélange à température ambiante pendant une semaine jusqu'à dissolution complète du myristate de lithium. On chauffe ensuite la solution catanionique à une température supérieure à  $65^\circ\text{C}$  pendant 1 minute, puis on laisse refroidir la solution jusqu'à température ambiante. Les objets obtenus par cette méthode ont la même  
30 structure que ceux de l'exemple 1 ci-dessus et apparaissent sur la figure 4 annexée réalisée par microscopie à cryofracture.

Indépendamment, on prépare une solution à 1,5 % en poids de polymère neutre : polyéthylèneglycol (PEG 20 000). On mélange à température ambiante, volume à volume, la solution catanionique à la solution de polymère neutre sous agitation douce. Comme dans l'exemple 1 ci-dessus, la dispersion finale obtenue  
5 peut être concentrée par simple filtration.

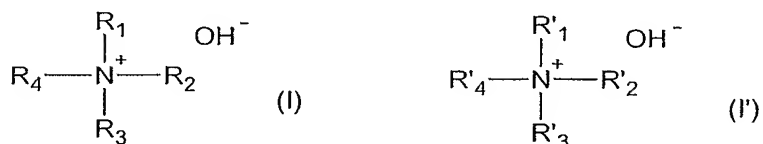
La signature structurale (non représentée) est semblable à celle de l'exemple 1, aussi bien par cryofracture que par rayons X.

REVENDICATIONS

1. Membrane catanionique sous forme d'une bicouche solide organisée comprenant une alternance latérale de tensioactifs anioniques à contre ions  $H^+$  et de tensioactifs cationiques à contre ions  $OH^-$  co-cristallisés dans laquelle la fraction molaire (FM) : quantité molaire de tensioactifs anioniques ( $Q_{TA}$ )/(quantité molaire de tensioactifs anioniques ( $Q_{TA}$ ) + quantité molaire de tensioactifs cationiques ( $Q_{TC}$ )) est supérieure à 0,5, ladite membrane formant une surface au moins localement plane, caractérisée par le fait que ladite bicouche est stabilisée par au moins un polymère neutre et hydrophobe ou de charge électrique globale opposée à la charge effective de ladite membrane catanionique, ledit polymère étant adsorbé sur ladite surface.

2. Membrane selon la revendication 1, caractérisée par le fait que les tensioactifs cationiques et anioniques sont choisis parmi les tensioactifs ayant une température de fusion supérieure à  $30^\circ C$ .

3. Membrane selon la revendication 1 ou 2, caractérisée par le fait que les tensioactifs cationiques sont choisis parmi les ammoniums quaternaires mono- et bicaténaires respectivement de formules (I) et (I') suivantes :



dans lesquelles :

-  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$ , identiques ou différents, représentent un radical alkyle en  $C_1$ - $C_4$ , hydroxyalkyle en  $C_1$ - $C_4$  ou alkyl( $C_1$ - $C_4$ )éther,

-  $R'_1$  et  $R'_2$ , identiques ou différents, représentent un radical alkyle en  $C_1$ - $C_4$ , hydroxyalkyle en  $C_1$ - $C_4$  ou alkyl( $C_1$ - $C_4$ )éther,

-  $R'_3$  et  $R'_4$ , identiques ou différents, représentent une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en  $C_8$ - $C_{24}$ , un radical benzyle, alkyl( $C_4$ - $C_{20}$ )benzyle, ou un groupement alkyl( $C_4$ - $C_{20}$ )ester,

- R<sub>4</sub> représente une chaîne hydrocarbonée saturée ou insaturée en C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub>, un radical benzyle, alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)benzyle, ou un groupement alkyl(C<sub>4</sub>-C<sub>20</sub>)ester ;  
et leurs mélanges.

5                    4. Membrane selon la revendication 3, caractérisée par le fait que les radicaux alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sont des radicaux méthyle.

                  5. Membrane selon la revendication 3 ou 4, caractérisée par le fait que les composés de formule (I) sont choisis parmi l'hydroxyde de cétyltriméthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriméthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriméthylammonium, l'hydroxyde de N-(2-carboxyxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de N (2 hydroxyéthyl)-N,N-diméthyl 1-hexadécanaminium, l'hydroxyde de cétyltriéthylammonium, l'hydroxyde de dodécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de stéaryltriéthylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltriéthylammonium, l'hydroxyde de cétyltripropylammonium, l'hydroxyde de dodécyltripropylammonium, l'hydroxyde de stéaryltripropylammonium, l'hydroxyde de tétradécyltripropylammonium.

10  
15

                  6. Membrane selon la revendication 3 ou 4, caractérisée par le fait que les composés de formule (I') sont choisis parmi l'hydroxyde de didodécyl-diméthylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-diéthylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-dipropylammonium, l'hydroxyde de didodécyl-dibutylammonium et l'hydroxyde de dicétyl-diméthyltriméthylammonium.

20

                  7. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les tensioactifs anioniques sont choisis parmi les acides carboxyliques à chaîne hydrophobe carbonée en C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> à contre ions H<sup>+</sup> et les phosphates et sulfonates à contre ions H<sup>+</sup> comportant une ou deux chaînes alkyle en C<sub>12</sub>-C<sub>20</sub>.

25

                  8. Membrane selon la revendication 7, caractérisée par le fait que les tensioactifs anioniques sont choisis parmi l'acide myristique, l'acide laurique et l'acide palmitique, les phosphates, les sulfates, les benzylsulfates et les monoesters de glycérol monocaténares.

30

9. Membrane selon l'une quelconque des revendications 3 à 8, caractérisée par le fait que les bicouches sont constituées :

5 a) soit d'un tensioactif cationique de formule (I) telle que définie à la revendication 3 et dans laquelle les radicaux  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  sont identiques et représentent un radical méthyle et  $R_4$  représente une chaîne hydrocarbonée ayant X  
atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement, associé à un acide  
carboxylique tel que défini à la revendication 6 dans lequel la chaîne hydrophobe  
carbonée en  $C_8$ - $C_{24}$  contient  $X \pm 4$  atomes de carbone ;

10 b) soit d'un tensioactif cationique de formule (I') telle que définie à la revendication 3 et dans laquelle les radicaux  $R'_1$  et  $R'_2$  sont identiques et représentent  
un radical méthyle et  $R'_3$  et  $R'_4$  sont identiques et représentent une chaîne  
hydrocarbonée ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24  
inclusivement, associé à un acide carboxylique tel que défini à la revendication 6 dans  
lequel la chaîne hydrophobe carbonée en  $C_8$ - $C_{24}$  contient  $X \pm 4$  atomes de carbone ;

15 c) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant deux chaînes  
alkyle identiques ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24  
inclusivement associé à tensioactif cationique de formule (I) tel que défini à la  
revendication 3 et dans laquelle les radicaux  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$  sont identiques et  
représentent un radical méthyle et  $R_4$  représente une chaîne alkyle en  $C_8$ - $C_{24}$  ;

20 d) soit d'un phosphate ou d'un sulfonate comportant une seule chaîne  
alkyle ayant X atomes de carbone, X étant compris entre 8 et 24 inclusivement associé  
à tensioactif cationique de formule (I') tel que défini à la revendication 3 et dans  
laquelle les radicaux  $R'_1$  et  $R'_2$  sont identiques et représentent un radical méthyle et  $R'_3$   
et  $R'_4$  sont identiques et représentent une chaîne alkyle en  $C_8$ - $C_{24}$ .

25 10. Membrane selon la revendication 9, caractérisée par le fait que  
les bicouches sont formées d'une association de cétyltriméthylammonium à contre ion  
 $OH^-$  et d'acide myristique à contre ion  $H^+$ .

30 11 Membrane selon l'une quelconque des revendications  
précédentes, caractérisée par le fait que la fraction molaire  $Q_{TA}/(Q_{TA}+Q_{TC})$  est  
comprise entre 0,52 et 0,66.

12. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que les bicouches renferment en outre une quantité molaire minoritaire de tensioactifs anioniques à contre ion métallique.

13. Membrane selon l'une quelconque des revendications  
5 précédentes, caractérisée par le fait que les polymères neutres sont des polymères non lipidiques choisis parmi les polysaccharides, les polyéthylèneglycols, les polyoxyéthylènes, la polyvinylpyrrolidone, les polyvinylalcools, les polymères di-blocs oxyéthylénés, les copolymères blocs à base d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène et les copolymères tri-blocs composés de blocs hydrophile-hydrophobe-  
10 hydrophile.

14. Membranes selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisée par le fait que les polymères de charge électrique globale opposée à la charge effective des membranes catanioniques sont des polymères de charge électrique faiblement négative choisis parmi les polyacrylates, les polyméthacrylates, les  
15 polyéthylméthacrylates, les polybutylméthacrylates et les polystyrènesulfonates, lesdits polymères étant substitués à plus de 75 % aléatoirement par des groupements hydrosolubles neutres.

15. Membrane selon la revendication 14, caractérisé par le fait que ledit polymère est un polyéthylèneglycol de masse moléculaire comprise entre 5 000 et  
20 50 000 Da.

16. Membrane selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée par le fait que lesdits polymères représentent de 10 à 400 % en poids par rapport au poids total de la bicouche.

17. Membrane selon l'une quelconque des revendications  
25 précédentes, caractérisée par le fait que sa fraction molaire  $Q_{TA}/(Q_{TA}+Q_{TC})$  est comprise entre 0,55 et 0,58 et qu'elle se présente sous la forme de micro-cristaux creux facettés.

18. Membrane selon la revendication 17, caractérisée par le fait qu'elle se présente sous la forme de polyèdres creux comportant de 12 à 30 faces  
30 approximativement triangulaires.

19. Membrane selon la revendication 18, caractérisée par le fait qu'elle se présente sous la forme d'icosaèdres creux ayant un volume intérieur compris entre 0,1 et 10  $\mu^3$ .

20. Membrane selon la revendication 18 ou 19, caractérisée par le fait qu'au sein de la bicouche solide organisée de chacune des faces desdits micro-cristaux, l'alternance latérale des tensioactifs anioniques et cationiques co-cristallisés est hexagonale, la partie plane desdites faces étant uniquement constituée d'espèces à contre ions  $H^+$  ou  $OH^-$  en quantités stoechiométriques tandis que les sommets desdites faces se présentent sous la forme d'un demi-tore interne formé en majorité des espèces anioniques en excès et en une quantité suffisante pour obtenir une fraction molaire  $Q_{TA}/(Q_{TA}+Q_{TC})$  comprise entre 0,55 et 0,58.

21. Membrane selon la revendication 20, caractérisée par le fait que le sommet de chacune des faces d'un micro-cristal forme un pore, conjointement avec les sommets des faces adjacentes du même micro-cristal.

22. Membrane selon la revendication 17, caractérisée par le fait qu'elle se présente sous la forme de fragments de polyèdres creux constituant un empilement de cristaux catanioniques tridimensionnels en forme de "piles d'assiettes".

23. Procédé de préparation d'une membrane catanionique telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 22, ledit procédé étant caractérisé par le fait qu'il comprend les étapes suivantes :

1) une première étape de formation de vésicules unilamellaires par mélange, dans un solvant aqueux de faible conductivité :

a) d'un tensioactif cationique (TC) à contre ions  $OH^-$  en une quantité molaire  $Q_{TC}$  et

b) d'un ou plusieurs tensioactifs anioniques (TA) en une quantité molaire  $Q_{TA}$  strictement supérieure à  $Q_{TC}$ , et répondant aux équations (1) à (3) suivantes :

$$Q_{TA} = Q_{TA1} + Q_{TA2} \quad (1)$$

$$Q_{TA1} = Q_{TC} \quad (2) \text{ et}$$

$$Q_{TA2} < 2(Q_{TC}) \quad (3)$$

dans lesquelles :

-  $Q_{TA1}$  est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre ion  $H^+$

-  $Q_{TA2}$  est la quantité molaire d'un tensioactif anionique à contre ion  $H^+$  ou à contre ion métallique, lesdits tensioactifs ayant une chaîne carbonée identique à celle du TC ou du TA à contre ion  $H^+$  utilisé en quantité  $Q_{TA1}$ ,

ledit mélange de tensioactif cationique et de tensioactif anionique étant réalisé à une température supérieure à la température de fusion des chaînes desdits tensioactifs ;

2) une deuxième étape d'obtention d'agrégats plans formés d'une seule bicouche moléculaire cristallisée, inter-digitée ou non, par refroidissement du mélange obtenu à la première étape à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents dans le mélange ;

3) une troisième étape de stabilisation des bicouches moléculaires cristallisées obtenues ci-dessus à la deuxième étape, par ajout d'au moins un polymère neutre et hydrophobe ou d'un polymère de charge électrique globale faiblement négative en solution dans un solvant aqueux de faible conductivité, ladite étape étant réalisée à une température inférieure à la température de fusion des chaînes des tensioactifs présents au sein du mélange.

24. Procédé selon la revendication 23, caractérisé par le fait que lorsque l'excès de tensioactif anionique est constitué par des tensioactifs anioniques à contre ions métalliques, alors la première étape du procédé comprend :

- une première sous étape au cours de laquelle on réalise d'abord le mélange du tensioactif cationique à contre ion  $OH^-$  avec le tensioactif anionique à contre ions  $H^+$  en une quantité  $Q_{TA1}$  égale à  $Q_{TC}$ , puis

- une deuxième sous étape au cours de laquelle on ajoute ensuite la quantité molaire  $Q_{TA2}$  de tensioactif anionique à contre ion métallique.

25. Procédé selon la revendication 23 ou 24, caractérisé par le fait que les solvants aqueux ont une conductivité inférieure ou égale à 1 MOhm.

26. Procédé selon l'une quelconque des revendications 23 à 25, caractérisé par le fait que les solvants aqueux sont choisis parmi l'eau, le glycérol et leurs mélanges.

5 27. Procédé selon l'une quelconque des revendications 23 à 26, caractérisé par le fait que lors de la première étape, la concentration totale de tensioactifs au sein de la solution est comprise entre 0,01 et 3 % en poids par rapport au poids total de ladite solution.

10 28. Procédé selon l'une quelconque des revendications 23 à 27, caractérisé par le fait que lors de la première étape, le mélange est chauffé à une température supérieure à 30 °C et inférieure à 80°C.

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 23 à 28, caractérisé par le fait qu'au cours de la première étape, on ajoute au mélange au moins une substance active.

15 30. Procédé selon la revendication 29, caractérisé par le fait que la substance active est choisie parmi les principes actifs pharmaceutiques, les substances actives à visée cosmétique, les cellules et les fragments d'ADN ou d'ARN.

20 31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 23 à 30, caractérisé par le fait que la fraction de volume de polymère ajouté au mélange lors de la troisième étape est comprise entre une et deux fois la masse totale des tensioactifs cationiques et anioniques.

32. Membrane catanionique telle que définie à l'une quelconque des revendications 1 à 22, pour une utilisation à titre de médicament pour la vectorisation d'espèces actives ou pour la rétention par adsorption et diffusion lente de molécules volatiles.

25 33. Membrane catanionique selon la revendication 32, caractérisée par le fait qu'elle se présente sous la forme d'un polyèdre creux facetté et est utilisée pour :

- l'encapsulation de médicaments, en vue de leur vectorisation,
  - l'encapsulation de bactéries entières, de fragments d'ADN ou
- 30 d'ARN,

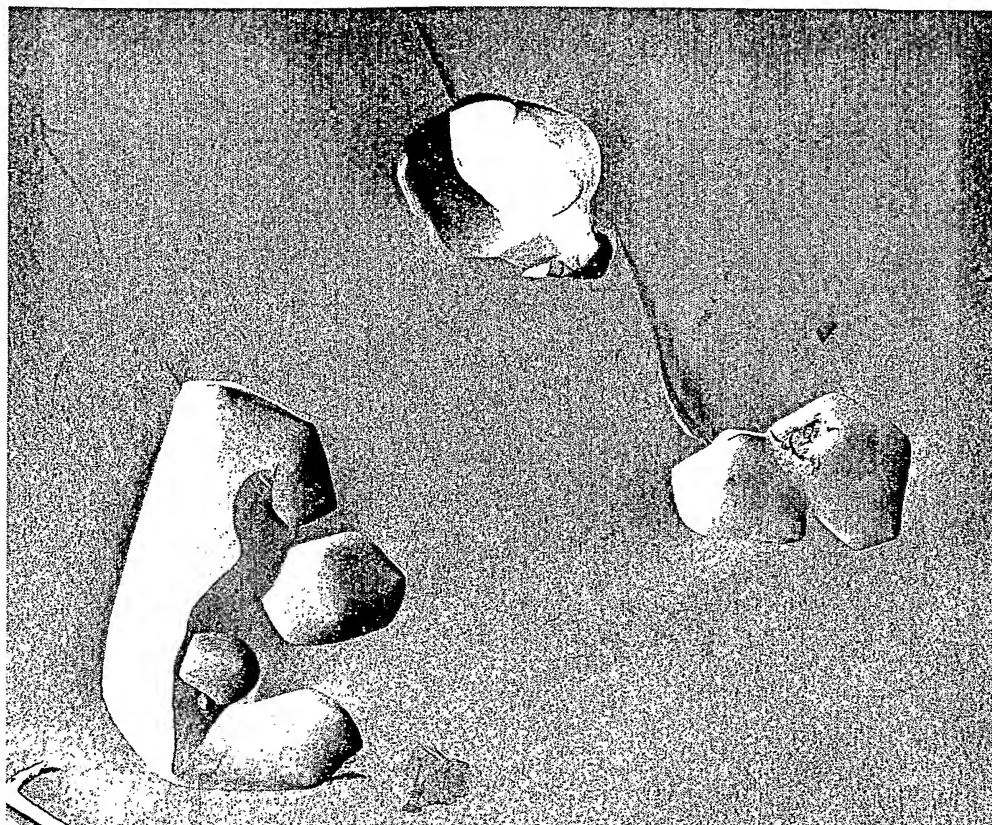
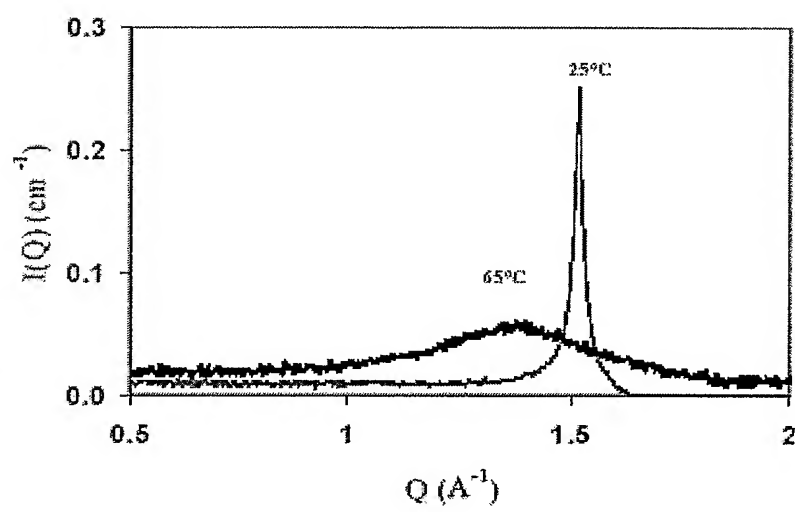
- la rétention de réactifs pour des réactions chimiques se produisant à l'intérieur des polyèdres,

- la réalisation de réactions de précipitation ou de cristallisation à l'intérieur des polyèdres, par diffusion lente de réactifs vers l'intérieur au travers des pores des polyèdres,

- à titre d'ingrédient cosmétique pour la fabrication de crèmes, obtenues par floculation sous la forme de grappes de polyèdres, et permettant la diffusion efficace de molécules actives après adsorption du polyèdre sur des surfaces de potentiel électrique de surface opposé.



FIGURE 1

FIGURE 2FIGURE 3

3/3



FIGURE 4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR2005/000342

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 B01J13/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 B01J A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MCKELVEY ET AL: "Templating Hollow Polymeric Spheres from Catanionic Equilibrium Vesicles: Synthesis and Characterisation" LANGMUIR, vol. 16, 2000, pages 8285-8290, XP002296164 the whole document	1-33
A	MARQUES ET AL: "Interaction between Catanionic Vesicles and Oppositely Charged Polyelectrolytes - Phase Behaviour and Phase Structure" MACROMOLECULES, vol. 32, 1999, pages 6626-6637, XP002296165 the whole document	1-33



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \* & \* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 June 2005

Date of mailing of the international search report

09/06/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Willsher, C

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR2005/000342

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DUBOIS ET AL: "Self-assembly of regular hollow icosahedra in salt-free catanionic solutions" NATURE, vol. 411, 2001, pages 672-675, XP002296166 cited in the application the whole document	1-33
A	TESTARD F ET AL: "Understanding solubilisation using principles of surfactant self-assembly as geometrical constraints" COMPTES RENDUS - GEOSCIENCE, ELSEVIER, PARIS, FR, vol. 334, no. 9, 2002, pages 649-663, XP004374362 ISSN: 1631-0713 the whole document	1-33
A	EP 1 219 348 A (XEROX CORP) 3 July 2002 (2002-07-03) the whole document	1-33

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2005/000342

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1219348	A	03-07-2002	US 6488870 B1	03-12-2002
			EP 1219348 A2	03-07-2002
			JP 2002166158 A	11-06-2002
<hr/>				

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No  
PCT/FR2005/000342

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 B01J13/10

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 B01J A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	MCKELVEY ET AL: "Templating Hollow Polymeric Spheres from Catanionic Equilibrium Vesicles: Synthesis and Characterisation" LANGMUIR, vol. 16, 2000, pages 8285-8290, XP002296164 le document en entier	1-33
A	MARQUES ET AL: "Interaction between Catanionic Vesicles and Oppositely Charged Polyelectrolytes - Phase Behaviour and Phase Structure" MACROMOLECULES, vol. 32, 1999, pages 6626-6637, XP002296165 le document en entier	1-33

-/--

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

### ° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

2 juin 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

09/06/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale  
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Willsher, C

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	DUBOIS ET AL: "Self-assembly of regular hollow icosahedra in salt-free catanionic solutions" NATURE, vol. 411, 2001, pages 672-675, XP002296166 cité dans la demande le document en entier -----	1-33
A	TESTARD F ET AL: "Understanding solubilisation using principles of surfactant self-assembly as geometrical constraints" COMPTES RENDUS - GEOSCIENCE, ELSEVIER, PARIS, FR, vol. 334, no. 9, 2002, pages 649-663, XP004374362 ISSN: 1631-0713 le document en entier -----	1-33
A	EP 1 219 348 A (XEROX CORP) 3 juillet 2002 (2002-07-03) le document en entier -----	1-33

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR2005/000342

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 1219348	A	03-07-2002	US 6488870 B1	03-12-2002
			EP 1219348 A2	03-07-2002
			JP 2002166158 A	11-06-2002
-----				